



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی قزوین
Qazvin University of Medical Sciences

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد (MSc) رشته بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

بررسی اثر پاروویروس B19 بر بیان ژن های سایتوکاین های التهابی IL-6، IL-1 β ، TNF- α و ژن NF- κ B در سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان در محیط آزمایشگاهی

استاد راهنما: دکتر نعمت‌ا... غیبی

استادان مشاور:

دکتر امیر آتشی - دکتر مهدی آزاد

نگارنده: شاهین امیری

چکیده:

زمینه: التهاب مزمن چنان که از شواهد علمی متعدد برمی آید، نقش بسیار مهمی در شکل گیری و توسعه سرطان بازی می کند. از سوی دیگر، التهاب، می تواند توسط فاکتورهای مختلفی از جمله عفونت های ویروسی ایجاد گردد. پاروویروس B19 (B19V) یک پاتوژن با عفونت شایع است که سلول های پیش ساز اریتروئیدی مغز استخوان را آلوده می سازد. نشان داده شده است که B19V می تواند وارد سلول های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان انسانی (hBM-MSCs) شده و به صورت نهفته باقی بماند. در این مطالعه، فرض ما بر این استوار بوده است که امکان آن وجود دارد hBM-MSC ها به عنوان یکی از اجزای اصلی آشیانه مغز استخوان پس از آلوده شدن با B19V سایتوکاین های پیش التهابی ترشح کنند.

مواد و روش ها: جهت ارزیابی فرضیه، hBM-MSC ها در محیط کشت استاندارد تا پاساژ سوم، کشت داده شدند و با پلاسמיד حاوی ژنوم پاروویروس B19 توسط نوکلئوفکشن آلوده سازی گشتند. بعد از ۳۶ ساعت RNA تام از تمام گروه های مورد مطالعه استخراج و ارزیابی کمی بیان ژن های $\text{IL-1}\beta$ ، IL-6 ، $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{NF-}\kappa\text{B}$ توسط ریل تایم پی سی آر انجام شد.

یافته ها: تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده افزایش معناداری را در بیان هر چهار ژن مورد مطالعه ($\text{IL-1}\beta$ ، IL-6 ، $\text{TNF-}\alpha$ و $\text{NF-}\kappa\text{B}$) در سلول های آلوده به ویروس B19 نشان داد ($P < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: تا به امروز تحقیقات متعددی بقای B19V را در بافت های مختلف، خصوصاً مغز استخوان به اثبات رساندند. اگرچه مطالعات بیشتر در این زمینه نیاز است؛ یافته های ما برای اولین بار اهمیت عفونت hBM-MSC ها را با پاروویروس B19 از حیث ایجاد یک محیط التهابی در مغز استخوان و متعاقباً ارتباط آن را با بیماری های ارگان های خون ساز مرتبط با التهاب نشان می دهد. در نهایت بر اساس نتایج به دست آمده، سنجش های ملکولی برای تشخیص عفونت hBM-MSC ها با پاروویروس B19 قبل از سلول درمانی به طور مؤکد، سفارش می گردد.

کلمات کلیدی: التهاب مزمن، پاروویروس B19، سلول های بنیادی مزانشیمی، عفونت، مغز استخوان

Abstract:

Background: Chronic inflammation as demonstrated by much scientific evidence plays a prominent role in cancer initiation and development. On the other hand, the Inflammation can be established by a number of factors such as viral infections. Parvovirus B19 (B19V) is a pathogen with widespread infection, which infects bone marrow erythroid progenitor cells. It has shown that B19V could enter human bone marrow mesenchymal stem cells (hBM-MSCs) but its infection is latent. In this study, we hypothesized that hBM-MSCs as the main cellular component of bone marrow niche may be induced to secrete pro-inflammatory cytokines after B19V infection.

Material and methods: hBM-MSCs were cultured up to passage 3 in standard culture medium. The cells were then subjected to nucleofection to transfer a plasmid containing B19V genome. After 36h, total RNA was extracted from all of studied groups and the expression levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and NF- κ B genes were examined using qRT-PCR.

Results: Analysis of obtained data from qRT-PCR showed the significant increase in gene expression of all four studied genes (IL-1 β , IL-6, TNF- α , and NF- κ B) in the cells which were transfected with B19V ($P < 0.05$).

Conclusion: Until today, several researchers have demonstrated persistence of B19V in different tissues, especially bone marrow. Although further researches are required, our findings for the first time suggest the importance of B19V infection of hBM-MSCs to establish an inflammatory microenvironment in the bone marrow and its involvement in inflammation-related diseases of hematopoietic organ. Finally, based on our results, molecular assay to diagnose B19V infection of hBM-MSCs prior to stem cell therapy is strongly recommended.

Keywords: bone marrow, chronic inflammation, infection, mesenchymal stem cell, parvovirus B19